

M. KIR. FERENCZ JÓZSEF TUDOMÁNY-EGYETEM

GYÓGYSZERISMERETI INTÉZETE.

Igazgató: DR. ISSEKUTZ BÉLA egyet.ny.r.tanár.

A Z A N Y A R O Z S É R T É K M E G H A T Á R O Z Á S A .

Doktori értekezés.



Írta:

AJTAY MIHÁLY  
gyógyszerész.



B 5013



E - 240

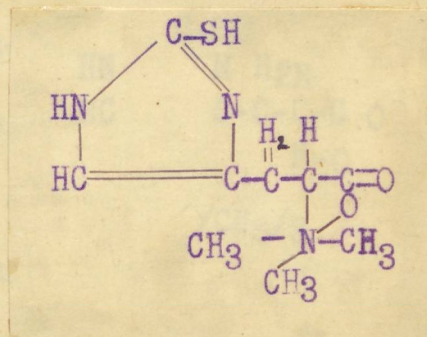


Nemcsak a régi orvoslásnak, hanem a modern gyógyászatnak is egyik nélkülözhetetlen és hatóanyagainak sajátos physiologiai hatása miatt, pótolhatatlan droguája az anyarozs. Ennek a gombának botanikai fejlődési folyamata igen jól ismert, de kémiája, bonyolult vegyiszerkezetű hatóanyagai még ma is megoldatlan problémái a pharmakochémiának.- Több mint egy évszázados multa tekint vissza az a tudományos törekvés, mely az anyarozs hatóanyagainak kivonásával, majd ennek megtörténtével a drog hatékonyságának mérésével foglalkozott és amely a jelenben is foglalkoztatja csaknem minden ország pharmakognosztáit és pharmakologusait.- Ezeknek a kutatásoknak áttekintésére szükséges, hogy különválasszuk azokat a munkákat és kutatókat, akik a XIX. század elejéről -- az 1820-as évektől kezdődőleg -- az anyarozsból hatékony kivonatokat vagy épen alkaloida természetű anyagokat állítottak elő, azoktól a szerzőktől, akik a legutóbbi évtizedben az anyarozs hatékonyságának megmérésére szolgáló eljárásokkal gazdagították a szakirodalmat.-

Hosszu ideig kísérleteztek a hatóanyagok előállításával és még a legujabb időkben is izoláltak önálló vegyi szerkezettel bíró anyagokat annak jeléül, hogy az amorph és gyanta természetű anyagoktól, valamint az amin származékoktól a kristályosodó alkaloidák csak igen nagy nehézségek árán választhatók le. Időbeli sorrendet tartva azok között akik beható vizsgálataikkal igyekeztek e zavart megszüntetni, elsőeknek kell emliteni a göttingeni WIGGERS-t, aki 1831-ben két anya-



got vont ki, a nem oldódó ergotint és a könnyen oldódó osmazont; majd BOMBELON és BONJEAN gyógyszerészeket, akik összehatóanyagokat tartalmazó kivonatokat készítettek. WENZEL már alkaloidáknak tulajdonította az anyarozs hatását és az ergotinsav mellett leválasztotta az ecbolin és ergotin nevű nem egységes alkaloidákat. Ugyanabban az időben DRAGENDORF savtermészetű anyagoknak tulajdonította a secale cornutum hatékonyságát és a sclerotinsavat valamint a picrosclerotint tartotta hatékonynak. Későbbi vizsgálatok megállapították, hogy ezek mind keverékek és több hatékony anyag vagy amorph gyanta és alkaloida keverékéből állottak. TANRET francia tudós volt az első, aki önálló vegyiszerkezettel bíró hatékony anyagot izolált: az amorph ergotint  $C_{35}H_{41}N_5O_6$ , mely vízben alig, de alkoholban, aetherben, chloroformban jól oldódik. Előállította a kristályos ergotint is, de az hatástalannak bizonyult. A kristályos ergotinin  $C_{35}H_{39}N_5O_5$  szintelen tűben kristályosodik, gyengén lúgos kémhatású, vízben alig oldódik. Organikus oldószerek jól oldják, kivéve az alkoholt, melyben kevésbé oldható. Sói jól oldódnak, oldatai a fényt jobbra csavarják; méhkontrakciót nem vált ki és nincs vérzéscsillapító hatása. Ha 3 rész jégcetben oldjuk, 100 rész vízzel felhígítjuk és 10 napig állni hagyjuk, akkor  $H_2O$  felvétele mellett ergotoxinná alakul, hatékonyra lesz. - Később 1909-ben sikerült a kéntartalmu ergothioneint is leválasztania. Az ergothionein egy gyenge bázis, mely szintelen kristályokat képez. Kezdetben szagtalan, állás következtében kellemetlen illatúvá lesz. Kálilúggal és chloroformmal főzve zöld színt ölt, mely





megsavanyítva kékessé lesz. Forró vízben, acetonban könnyen oldódik, aetherben és benzinben oldhatatlan, savakkal kristályos sókat képez és hatástalan alkotórésze a drógnak.- A továbbiakban megemlítendő KOBERT neve, aki 1884-ben a cornutint különítette el, melynek hatékony varietása egyenlő a Wenzel ekbolinjával, majd KELLER következik, aki szintén egy cornutin nevű anyagot állított elő, de -- amint Barger és Dale vizsgálatai kimutatták -- az ergotinin és a hydroergotinin keveréke volt; ennek sói vízben jól oldódnak, kivéve a normalis sulfátját, mely vízben nagyon rosszul oldható. Ezen tulajdonsága alapján leválasztható az ergotininintől. A hydroergotinin vagy a Barger nevét viselő ergotoxin methyllalkohollal főzve -- viz lehasasodásával -- átalakul kristályos ergotininné, tehát az ergotininint az ergotoxin anhidridjének tekinthetjük. BARGER és DALE foglalkoztak a méhkontrakciót kiváltó amin anyagokkal is és rámutattak arra, hogy az anyarozs alkaloidái mellett a sokkal ellenállóbb histaminnak és tyraminnak is van therapeutikus értékük.

1918-ban STOLL közölte egy még addig ismeretlen, igen nagy jelentőségű alkaloidának az ergotaminnak izolálását, mely determinált vegyi tulajdonságokkal és az anyarozs jellegzetes hatásával bíró egységes hatórésze a drógnak. Az előállítás módszere szabaddalmazva van és csak nagy vonalaiban közöltetett. Stoll -- módszere szerint -- svanyu sóval /alum.sulf./ megköti a drógnakban az alkaloidákat és az így elkészített drógot benzollal kivonja, miáltal kioldódnak a festékanyagok, sterinek, zsíros olaj stb., de visszamaradnak az alkaloidák. Azután luggal szabaddá teszi az alkaloidákat és ismét benzolos kivonást alkalmaz. A második benzolos kivonatból átkristályosítással nyeri a vegytiszta ergotamint



$C_{33}H_{35}N_5O_5$ , mely vízben igen rosszul oldódik és gyengén lúgos kémhatású. Organikus oldószerek -- a benzin és petrolaether kivételével -- jól oldják. Az ergotamin sói vízben jól oldódnak és csak sulfátja képez kivételt, mely mint az ergotoxin sulfátja is, rosszul oldódik. Az ergotamin oldataiban hosszabb idő alatt külső behatások nélkül is, de methylalkohollal főzve gyorsabban átalakul isomérjévé: ergotamininná. Az átalakulás -- az ergotoxin esetével ellenkezőleg -- vízlehasadás nélkül történik meg. Míg az ergotoxinból keletkező ergotinin hatástalan, addig az ergotamin isomérje az ergotaminin hatékony, de ez a hatás sem erősségben, sem tartósságában nem egyenlő a változatlan alkaloida hatásával. Stoll közölte elsőnek az ergotaminint is, melyről a legújabb vizsgálatok is azt tartják, hogy nem genuin alkaloidja a drógnak és amelyet nem vagy csak elenyésző csekély mennyiségben tartalmazza. Valószínű, hogy az előállítás ideje alatt keletkezik az ergotoxinból és az ergotaminból, de keletkezhetik a sensibaminból is.<sup>2</sup>

1931-ben S. SMITH és M. TIMMIS<sup>3</sup> leírják az ergotoxin isomér vegyületének a pseudo-ergotininnek sajátságait, majd 1932-ben sikerült a Chinon vegyészeti gyárnak a hatodik hatékony alkaloidát, a sensibamint izolálni, melyet a gyár egy igen kiméletes eljárás segítségével a külön fractióba leválasztható kristályos secale alkaloidáktól jól letudja választani.

Végül, mint ezeknek a munkálatoknak legújabb eredményét a németországi secale cornutumból előállított ergoclavint emlitem meg, melynek előállítása és imsertetése W. KÜSSNER<sup>4</sup> közlésében az E. Merck's Jahresbericht 1933. évfolyamában jelent meg.

A két legutóbbi alkaloida közül a sensibamin a magyarországi



anyarozsban aránylag nagy százalékban fordul elő. Nevét érzékenységétől kapta, fény és hő hatására igen könnyen bomlik. Kémiaailag különbözik a Stoll-féle ergotamintól, de hatásában megegyezik vele és amint ISSEKUTZ és LEINZINGER<sup>2</sup> biológiai kísérletei során bebizonyosodott, közöttük semmiféle hatáskülönbség nincs. Methylalkohollal főzve átalakítható sensibamininné. Egyenlő mennyiségű ergotamin és ergotaminnin chloroformos oldatából a sensibamin válik ki, nem kondenzálódás, hanem más még eddig ismeretlen vegyi folyamat kapcsán. Rendkívül nagy érzékenységére jellemző az a sajátossága is, hogy az ugynevezett nem közömbös szerves oldószerekben igen könnyen oldhatatlan anyaggá alakul át. Ez az átalakulás aethylalkoholban, methylalkoholban, acetonban és aetherben is végbe megy.

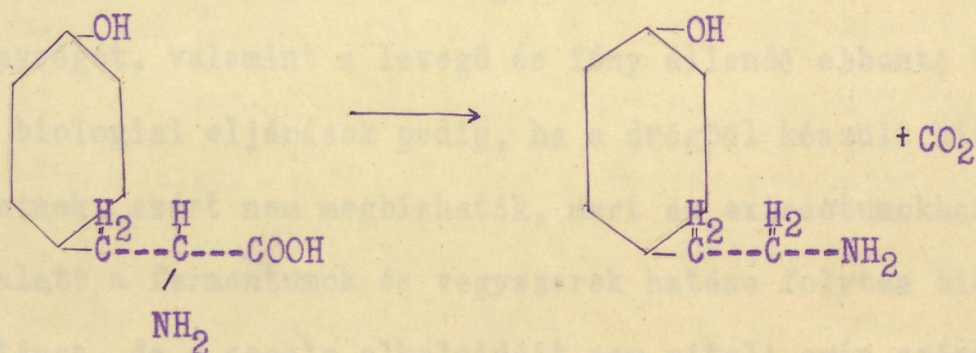
Az ergoclavint, mely a németországi secale cornutum alkaloidáinak 18-20 %-át képezi, a darmstadti E. Merck gyár állította elő. Vizben igen jól oldódik és nagy pharmacológiai hatással bír. Előállítása úgy történik, hogy cca 1 % összalkaloidát tartalmazó gyengén savanyu oldatot meglugositunk és aetherrel kirázzuk. Az aetheres oldatból 0 C°-on kikristályosodik az ergotinin. A vizes rész 90 %-os tejsavval megsavanyítva és aetherrel ismét kirázva szolgáltatja az ergotoxint. Az így fennmaradó oldatot meglugositjuk és trichloraethylennel rázzuk ki, majd vacuumban ledesztillálva az oldószert, kikristályosodik az ergoclavín. Képlete:  $C_{31}H_{37}N_5O_5 \cdot H_2O$  és hosszú, 170-171 C°-nál olvadó, szögletes lapokban kristályosodik. 1 %-os chloroformos oldata a fényt<sup>+</sup> 115 °-al csavarja és bár olvadáspontja, valamint hygroscopikus tulajdonsága közel állanak a sensibamin hasonló állandóihoz, mégis alkoholos és aetheres oldata már sokkal állandóbb, azokban fizikai tulajdonságait nem változtatja



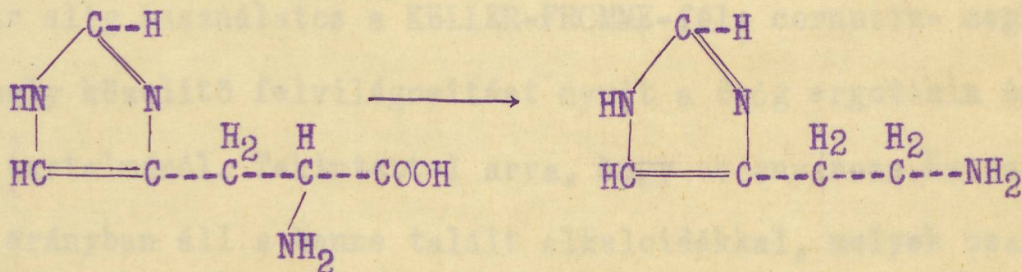
meg.-

Az említett alkaloidák közül az 1908 évi francia gyógyszer-könyv felveszi az ergotint, melyet tömény tejsavban oldat hatás-növelés céljából; az új angol pharmacopea /1932 évi/ az aethansul-fosavas ergotoxint iktatta be a hivatalos szerek közé.

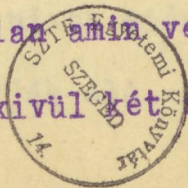
Az anyarozs hatóanyagainak második csoportját az amin származékok képezik, melyeket TSCHIRCH<sup>5</sup> "zwischenbasen" névvel jelölve elkülöníti a kezdeti bázisokat képező alkaloidáktól. Ide tartoznak az agmatin, mely a dróg argininjából képződik az anyarozs kivona-taiban, továbbá a leucin és a belőle képződő izoamylamin, a cholin valamint bomlástermékei: a betain és a trimethylamin.- Külön em-lithetők a ciklikus amin vegyületek, melyek az anyarozs kivonatai-ban már hatástani szempontból is jelentőséggel bírnak. Így a tyro-sinból képződő tyramin /p.oxyphenylaethylamin/



mely méhkontrakciót kiváltó anyag és véredényösszehúzó hatásában hasonló az adrenalinhoz; továbbá a histamin, mely a histidin bom-lástermékének tekinthető:



A dróg számos más hatástalan<sup>5</sup> amin vegyületén, organikus sava-in, sterinjén, és szénhidrátain kívül két szinanyagot is tartalmaz,





az ibolyaszínű sclererythrint és a sárga scleroxantint. A sclererythrin azon tulajdonsága, hogy ammoniában és alkali lugokban ibolyás-vörös színben oldódik, igen fontos az anyarozsnak a lisztből való kimutatására, mely nagyobb fertőzöttsége esetén/ergotismus convulsivus és ergotismus gangrenosus alakjában/tömegmérgezéseket okozhat.-

A hatékony alkaloidák előállításával párhuzamosan szükségesnek mutatkozott a dróg hatásértékének megállapítása is. Tekintettel arra, hogy az anyarozs hatékonysága specifikus és nem specifikus anyagok hatásából tevődik össze, pontos értékmeghatározása is igen körülményes. Számos módszert találunk erre vonatkozólag, melyeknek egy része kémiai uton, más része fiziológiai uton határozatja meg a dróg hatásértékét. Az előbbi eljárásoknál tekintetbe kell venni a hatóanyagoknak a vegyszerekkel szembeni renkívül nagy érzékenységet, valamint a levegő és fény állandó elbontó befolyását. A biológiai eljárások pedig, ha a drógból készült kivonatokkal végeztetnek, azért nem megbízhatók, mert az extractumokban a készítésük alatt a fermentumok és vegyszerek hatása folytán biológiailag hatásos, de a secale alkaloidáit nem pótoló amin származékok keletkeznek /hisztamin, tyramin stb./ melyek növelik az eredményeket, jól-lehet az alkaloidák részben vagy teljesen el is bomlottak.

A különböző értékmeghatározási módszerek közül a legrégebbi, de ma már alig használatos a KELLER-FROMME-féle cornutin-meghatározás, mely közelítő felvilágosítást nyújt a dróg ergotinin és ergotoxin tartalmáról. Tekintettel arra, hogy az anyarozs hatásértéke egyenes arányban áll a benne talált alkaloidákkal, melyek csak hatékony formában fordulnak elő, az újabb módszerek ezeknek az alkaloidáknak izolálását és mérését írják elő. A gyógyszerkönyvek közül



$\text{N}_a\text{OH}$ -val szineződésig titráltam. Sok esetben az alkoholos rázadék annyira színes volt, hogy a szűréshez csontszén hozzáadása vált szükségessé. Az elfogyasztott cc.-ek és törtrészeinek számát 2-vel szoroztam, hogy a dróg savszámát kapjam. A fenti módszerrel 11 különböző anyarozsmintának határoztam meg a savszámát. Ezekből a munkákból általában megállapítható, hogy minél régiebb az anyarozs, annál nagyobb a szabad zsírsavak mennyisége. A sorozatos meghatározásokból ezen szabályszerűségeken kívül sem a zsíros olaj és savszám viszonyára, sem a savszám és az alkaloida mennyiségének összefüggésére következtetni nem lehetett.-

Annak megállapítására, hogy ezek az ismert savszámu anyarozs minták mennyi hatékony alkaloidát tartalmaznak a WESSEL-féle gravimetriás eljárással meghatározásokat végeztem. Magam ellenőrzésére a fenti mintáknak nephelometriás úton is meghatároztam alkaloida tartalmát.

A Wessel<sup>6</sup> eljárás leírása "Über die quantitative Bestimmung der Alkaloide im Mutterkorn" cím alatt közöltetett és a következő. 120 gr. anyarczsport petrolaetherrel mindaddig perkolálunk, míg a lefolyó petrolaether 5 cc.-e elpárologtatva zsíros maradékot nem hagy hátra. Az így zsirtalanított drógot szabad levegőn vagy vácuumban kiszáritjuk és belőle 100 gr.-nyit porítunk, majd 4 gr.  $\text{MgO}$ -val pocellán csészében jól összekeverünk és lassan hozzáadott 40 cc. vízzel átnedvesítjük. E keveréket egy 1 literes üvegbe tesszük /quantitative/ és 400 cc. aether depuratussal -- jól bedugaszolva -- 3-4 órán át rázzuk. Az idő elteltével 100 cc. vizet adunk hozzá újra összerázzuk és 5-10 gr. tragacantha por hozzáadása után a vizes réteg összeállásáig erősen rázzuk. Az aetheres részből 200 cc.-nyit leszűrünk a további feldolgozás céljaira. Ha a



folyadék nem volna elég tiszta, 1-2 gr. talcum és 30 cc. víz hozzáadása után filtráljuk. Legtöbbször azonban ez szükségtelen. A kétszáz cc.-es aetheres szüredéket rázó-tölcsérben előbb 20 cc. 1 %-os sósavval, majd 20 cc. vízzel és utána ismét 10-10 ccm. sósavval kirázzuk. Egy-egy rázadék leeresztése után néhány csepp sósavval utánmossuk a tölcsér szárát és végül újra hozzáadott 10 cc. rázadékból ellenőrizzük Mayer reagenssel a kivonás tökéletességét. A lombikba gyűjtött sósavas kivonatokat  $50^{\circ}\text{C}$  vízfürdőn melegítjük, míg az aether elillan. /A zsíros olajat kivonó petrolaethert is kirázhatjuk 15 cc. sósavval, hogy az esetleg kioldódott alkaloidákat is hozzáadhassuk a fenti rázadékhoz./ 1-2 gr. talcum hozzáadása után pohárba szűrjük, a filtert kétszer 10-10 cc. sósavval utánmossuk, majd a folyadékot 10 %-os ammoniával kifejezett lugossáig lugositjuk, /míg a feltisztult részben újra cseppentve már csapadék nem keletkezik./ 12 órán át hűvös helyen állani hagyjuk és azután egy állandó súlyra beállított mérőüveg szűrőpapírára gyűjtve mossuk a csapadékot mindaddig, míg  $\text{HNO}_3$ -al megsavanyított  $\text{AgNO}_3$ -al már csapadékot / $\text{AgCl}$ / nem ad. A quantitative összegyűjtött csapadékot  $90-100^{\circ}\text{C}$ -on állandó súlyig szárítjuk és mérjük.-

A Wessel eljárás a VI. kiadású német gyógyszerkönyv -- mely elsőnek közölte a pharmakopéák közül anyarozs alkaloidát meghatározó módszert -- alapelvein épül fel és annak menetét megtartva a következő szempontokból szenvedett változásokat: 1./ előírja a zsirtalanítást, 2./ gravimetriás meghatározást végeztet, 3./ ammoniával lugosit.-

A D.A.B. VI. zsíros drógból határoztatja meg a secale alkaloidait, azonban a zsíros olajból felszabaduló zsírsavak a hozzáadott



MgO-val a rázás alatt kolloidális természetű emulziókat, magnézia szappanokat képeznek, melyek egyrészt a sósavas rázadék szűrését akadályozzák vagy éppen lehetetlenné teszik, másrészt aetherben oldódva titrálás alá kerülhetnek. Ez az eset adódott elő GAAL<sup>7</sup> anyarozs meghatározásai során is, amikor biológiailag hatástalan drógnak a D.A.B.6.szerint mért alkaloida tartalmát 0.37 %-nak találta. Minden esetre a német gyógyszerkönyvben közölt eljárással friss dróg sokkal precízebben értékelhető, mint az avas anyarozs, melynek zsíros olaja -- a fenti értelemben -- hibaforrásul szolgálhat.

A súlyméréssel való meghatározás a német gyógyszerkönyv methyorange melletti titrálásával szemben azért pontosabb, mert 100 gr. drógból kiindulva mintegy 0.5 cc. HCl n/10-ről van szó és még nagy analitikai gyakorlattal rendelkező sem tudja 0.1 cc.-nél kevesebb mennyiségnél a színváltozást megítélni, ami cca. 20 % - differenciát adhat.- A natriumcarbonát helyetti ammoniákos meglugosításnak előnyei: a pezsgés elkerülése, a keletkezett só  $\text{NH}_4\text{Cl}$  könnyebben kimosható mint az  $\text{NaCl}$ , melegítésre elillan és a kicsapódás is finomabb, amivel elkerülhetjük, hogy a csapadék a képződött sóból magába zárjon.-

Ezen módszerrel végeztem elsősorban a meghatározott savszámú anyarozsmintáknak értékmeghatározását. Módosítást csak annyiban eszközöltem, hogy a szűrőpapírra gyűjtött csapadékot a vacuumban nem 100 C°-on, hanem -- az esetleges oxidáció elkerülése céljából -- 50 C°-on szárítottam súlyállandóságig. Fokozott figyelmet fordítottam továbbá arra is, hogy a sósavas rázadékból az 50 C°-os vízfürdön az aethert teljesen elűzzem, ugyanis aetherrel telített vizes oldat a kicsapott alkaloida bázis egy részét oldatba vinné, miáltal az eredmény kisebbedne. Az alább feltüntetett adatok kiszámításánál



nem mulasztottam el tekintetbe venni, hogy a kapott mennyiség zsirtalanított drógra vonatkozik, tehát a reális érték meghatározásához a zsiros anyarozsra kell átszámítani.-

Sorra tárgyalom az egyes mintákat, melyek mindegyikének meghatároztam a savszámát a már leírt módon és zsiros olaj tartalmát is úgy, hogy a drógpör Soxhlett készülékben petrolaetherrel kivontam. A petrolaether több nap alatt kioldotta az olajat / alkaloidákat csak elhanyagolható nyomokban mutatott néha Mayer reagens hozzáadására / s ismert súlyú edényből ledesztillálva mértem a dróg zsiros olaj tartalmát, valamint az ismeretett Wessel eljárással az alkaloida tartalmát is.-

1. Az első meghatározást egy 1 éves /1933-as/ poritva tartott és nem zsirtalanított drógon végeztem. Savszáma a megengedett határt túllépte: 3, zsiros olaj tartalma 12.57 % volt, alkaloida tartalma első meghatározással 0.14 %, második meghatározással 0.147

2. A második minta 1934-es évfolyamu Thalmayer és Seitz pakolásában kapott friss anyarozs volt, mely egész sclerotiumokból állott és közép szép drógnak nevezhető, ennek savszáma: 2, tehát ép a megengedett határérték, zsiros olaja 12.6 % alkaloida tartalma első meghatározással 0.071 %, második meghat. 0.079 % volt.-

3. Harmadik mintám egészben eltartott, 1931-es évfolyamu intenzív illatu anyarozs, melynek savszáma 3.2, zsiros olaja 17 %, alkaloida tartalma 0.085 % volt.-

4. A negyedik mintát az Egyetemi Gyógyszertárból kaptam. Férges, zacskóban tartott gyenge dróg volt, melynek savszámát 2.2, zsiros olaját 23 %-nak, alkaloida tartalmát 0.092 %-nak találtam.-

5. Egy kb. 5-6 éves papírzacskóban őrzött és a Gyógyszertani Intézet muzeumában sötét helyen elraktározott anyarozs minta volt,



melynek savszáma 3.4, zsíros olaja 21.6 %, alkaloida tartalma 0.076 % volt.-

6. Hatodik mintámat egy 1931.évi és ugyanabban az évben porított és zsirtalanított anyarozsport használtam fel, melynek savszáma a zsirtalanítás miatt nem volt meghatározható. Alkaloida tartalmát 0.11 %-nak találtam.-

7. Ezen meghatározásomat egy 1926-os évfolyamu Caesar e. Loretz A.G. eredetű "deutsch" jelzésű drógon végeztem. Ennek az apró, kicsi sclerotiumokból álló anyarozsznak zsíros olaja 21.5 % volt, savszámát 2.8-nak, alkaloida tartalmát 0.068 %-nak találtam.-

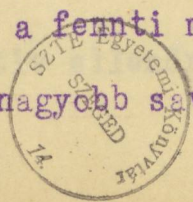
8. Ugyanazon évfolyamu, ugyanazon cégtől eredő "russisch" jelzésű, töredezett dróg savszáma 2.6, zsíros olaja 24 %, alkaloida tartalma 0.062 %.-

9. Kilencedik vizsgálatomat egy lengyelországi származású "Herbapol" jelzésű anyarozson végeztem, ennek zsirtartalma 24.2 % savszáma 1.8, alkaloida tartalma aránylag alacsony: 0.053 % volt.

10. Ez a minta ugyancsak lengyel származású, de "celeritas" signálású dróg, melynek zsíros olaja 23.8 %, savszáma 2.4, alkaloida tartalma 0.084 % volt.-

11. Utolsó meghatározásomat egy 1934-es évfolyamu, tehát friss, nagyon szép 3-5 cm. hosszú sclerotiumokból álló, Erdélyben gyűjtött anyarozson végeztem. Ezek a külőleg értékesnek ítéltető dróg a következő eredményeket adta: zsíros olaja 21.6 %, savszáma 1.4, alkaloida tartalma 0.0528 %.-

Azt a föltevést tehát, hogy az a savszámon alapuló, közvetett bizonyítás nem adhat reális eredményt sem túl gazdag, sem pedig alkaloidában szegény dróg esetében a fenti meghatározási eredményeim igazolják. A megengedettnél nagyobb savszám esetében





/Ph.H.IV = 2/ csaknem minden esetben meg volt a D.A.B.6-ban előírt minimalis határértéknek megfelelő alkaloida mennyiség /0.05 %/ és előfordult olyan dróg is, melynek savszáma 1.4 azaz a megengedett maximumot el sem érte és mégis alkaloidában nagyon szegénynek bizonyult. Míg az első minta egy alkaloidában gazdag anyarozs, melynek savszáma a megengedettnél magasabb mégis alkaloida tartalma csaknem háromszorosa a német gyógyszerkönyvbenfelvett minimalás határértéknek addig a 11-es mintámnál pl. a savszám nem túl magas, még a megengedett maximumot sem érte el, mégis olyan szegény hatóanyagokban, hogy orvosi célra eredményesen alig volna alkalmazható.-

Az eddig részletezett eredményeket a könnyebb áttekintés céljából táblázatban foglalom össze, melyből kitűnik, hogy az anyarozs savszáma és alkaloida mennyisége között semmiféle szabályszerűség nincs. Bár állás következtében a dróg alkaloidáinak egy része elbomolhatott, de még mindig tartalmazhat hatékonyformában is szükséges mennyiséget. A savszám meghatározásból következtetni lehet az anyarozs idejére, de -- a már említett okok alapján -- nem szolgálhat hatásértékének mérésével.-

Sorszám	A d r ó g	Zsiros olaj %	Savszám	Alkaloida %	Datum
1.	1933-as porított	12.57	3	0.14 0.147	934.XI.
2.	1934-es évf.bpesti	12.6	2	0.071 0.079	"-
3.	1931-es évf.egész	17	3.2	0.085	"-
4.	1934-es gyógyszerári	23	2.2	0.097	934.XII.
5.	6 éves egészben őrzött	21.6	3.4	0.076	"-
6.	1931-es évf.zsirtalanított	--	-	0.11	"-
7.	Németországi "deutsch"1926	21.5	2.8	0.068	"-
8.	1926-os "rusisch"jelzésű	24	2.6	0.062	"-
9.	Lengyelországi "Herbapol"	24.2	1.8	0.053	935.I.
10.	Lengyelországi "Celeritas"	23.8	2.4	0.084	"-
11.	Erdélyi 1934.évf.	21.6	1.4	0.0528	935.II

Meghatározásaim helyességének qualitativ ellenőrzésül a nyert



alkaloidákkal a Keller-Fromme féle próbát végeztem el: egy kevés anyagot tömény ecetsavban oldva  $\text{FeCl}_3$ -t tartalmazó tömény  $\text{H}_2\text{SO}_4$  fölé rétegeztem, amikor is az érintkezési felületen kékibolyás gyűrű keletkezett. Napok múltán az ecetsavas rész ibolyás szint öltött a kénsav pedig zöldessé lett. Ezt a reakciót minden egyes alkaloidám adta. p.Dimethylaminobenzaldehyd kénsavas közegében kék szineződéssel oldódott. Ez utóbbi reakcióval dolgozatomban más helyén ismerttetett módszerrel kolorimetriás meghatározásokat is végeztem.-

A különböző meghatározásoknál nyert alkaloida mennyiségek %-os helyességét nephelometriás úton is ellenőriztem. Ennek az eljárásnak részletes ismertetését az anyaozs alkaloidáival kapcsolatosan TUKATS<sup>8)</sup> közölte: "Über die Wertbestimmung des Mutterkorns mit dem Nephelometer" címmel. Ez egy olyan analitikai meghatározó módszer, melynél egy oldat koncentrációjára annak valamely reagenstől szenvedett zavarosodásának erősségéből következtetünk. Analog a színintenzitásból következtető kolorimetriával. Különösen biológiai meghatározásokkal kapcsolatosan található sok adat a nephelometriás módszerről /vér, bakterológiai, ferment, kolloid meghatározás/, azonban egyszerűsége és aránylag rövid idő alatt elvégezhető volta miatt a gyógyszerek /drógok alkaloidái/ quantitativ vizsgálatainál is alkalmazható. Amint a kolorimeterben ismert töménységű oldat színintenzitását vetjük össze a keresett koncentrációval, úgy a "zavarodás mérőben" az ismeretlen oldat zavarosodását hasonlítjuk össze az ismert standarddal. A készülék -- mint a polarimeter is -- optikailag tökéletesen konstruált eszköz /Kleimann-féle/, melynek szabályai igen egyszerűek. A fény függőleges irányban halad át a folyadéktartó csővön és az itt visszavert úgynevezett Tyndall-fény mennyiségét olvas-



suk le a skálán, miután a folyadékoszlopot oly magasságban világítjuk meg, hogy a látómező igyszinné legyen. Szükséges, hogy a meghatározás ideje alatt az oldat zavarosodása állandó legyen, csapadék ne képződjék, homogén maradjon. Az összehasonlítandó oldatok közötti koncentráció különbség az 1:4 arányt ne lépje túl. A meghatározás úgy történik, hogy sötét szobában 75 cm.-re a készüléktől, a nyílásokkal egy magasságra fényforrást helyezünk /150-es Osram-lámpa/. A csöveket megtöltjük, egyiket az ismert, másikat az ismeretlen oldattal, majd a standardot 10-15-20 skálára beosztásra állítva keressük, hogy a látótér minkét felének egyenlő megvilágításakor milyen állás felel meg a vizsgálandó oldat skálájának. Az egyéni leolvasás hibaforrásának kiküszöbölésére szükséges, hogy többször olvassuk le és a kapott értékek középarányosát vegyük. Kiszámítása a következő képlet szerint történik:

$$X = \frac{\text{conc. x a standard skálájával}}{\text{vizsgálandó oldat skálájával}}$$

Az anyarozs alkaloidái Mayer reagenssel igen nagy hígításban /1:100.000-1:200.000/ már jól észlelhető zavarosodást okoznak. Ezen az alapon a nephelometriás eljárással bizonyos mennyiségű anyarozsból kivont alkaloidát igen könnyen meghatározhatunk. Technikája a következő: parafadugóval jól elzárható cca. 30 cc.-es centrifugacsövekben 1 gr. porított secale cornutumot 20 cc.petrolaetherrel 1 órai rázással zsirtalanítunk és centrifugálás után egy gummilabdával ellátott pipettával a folyadékot eltávolítjuk. 2 x 10-10 cc. petrolaetherrel ugyanezt megismételjük, majd vacuumban /csőben hagyva/ kiszáritjuk. Meghatározásaimhoz szükséges mintákat a gravimetriás eljárás zsirtalanításakor nyertem. 1 gr. porra 2 cc.  $MgO$  suspensiót töltöttem, 10 percig állni hagytam, majd 10-10 cc.aetherrel 1/2-1/2 óráig ráztam és centrifugálás után a rázadékot választó töl-



csérbe gyűjtöttem, majd 0.5 %-os bórkősavas oldat 20-15-10 cc.-ével kiráztam. A lombikba gyűjtött rázadékokból gyenge hőnél elűztem az aethert és egy 100 cc.-es edénybe szűrve 0.5 %-os bórkősavas oldattal 95 cc.-re töltöttemfel. Az így nyert alkaloida oldathoz 20 csepp Mayer reagenst tettem és 100 cc.-re egészítettem ki. Gyenge tejszerű zavarosodás képződött és hogy ez homogen legyen, ovatosan meglóbáltam az edényt. Ezt töltöttem a nephelometer egyik csövébe, míg a másik csőbe az összehasonlításra szolgáló oldatot, melyet a következő képen készítettemel: 1 mgr. ergotamintartarátot /Gynergen inj,Sandoz/ 0.5 %-os bórkősavas oldat 48 cc.-ével higitottam, 20 csepp Mayer reagens hozzáadása után 50 cc.-re egészítettem ki /0.002 %/. A képletbe való behelyettesítéssel 1 gr. dróg alkaloida tartarát tartalmát kaptam meg mgr.-okban. Az alkaloida bázás kiszámítására az eredményt megszoroztam 0.84-el. A fenti módon meghatározott minták eredményeit a következő táblázatban foglalom össze:

M i n t a	Savszám	A l k a l o i d a t a r t a l o m	
		gravimetriával	nephelometriával
1 számú	3	0.14	0.147
2 "	2	0.071	0.079
3 "	3.2	0.085	0.082 %
4 "	2.2	0.097	0.0875 %
5 "	3.4	0.076	0.0878 %
6 "	-	0.11	0.1050 %
7 "	2.8	0.068	0.0503 0.0467 %
8 "	2.6	0.062	0.0499 %
9 "	1.8	0.053	0.064 %
10 "	2.4	0.084	0.0935 %
11 "	1.4	0.0528	0.0546 %

E táblázatban felvettem dolgozatom más helyén már közölt Wessel eljárással kapott meghatározási eredményeket is, összehasonlítás céljából. A 6-os számú mintánál megjegyzendő az a körülmény, hogy a vizsgált anyag már zsirtalanítva volt, tehát ismeretlen zsirtartalma



folytán a dróg eredeti értékére nem számíthattam át. A gravimetri-  
ás és nephelometriás eredmények közötti kis eltérések onnan származ-  
nak, hogy -- amint Tukats is megjegyzi -- az anyarozs hatóanyagainak  
ergotaminos része Mayer reagenssel erősebben zavarosodik mint a nem  
ergotaminos rész. Ezeknek az eltéréseknek megvizsgálása céljából az  
önálló vegyi szerkezettel bíró hatékony alkaloidáknak, névszerint az  
ergotaminnak, sensibaminnak, ergotoxinnak és ergotamininnak, melye-  
ket a Chinoin vegyészeti gyár bocsájtott az Intézet rendelkezésére,  
összehasonlítottam zavarosodási fokát eredeti Gynergen, Sandoz ~~xx~~ ha-  
sonló töménységű oldatának zavarosodásával. Azt tapasztaltam, hogy  
ugyanazon töménységű oldatok egymástól igen eltérő erősségben zava-  
rosodtak meg. Így a Gynergen 2 mgr. %-os oldatának, mint Standard 10-  
es állásának a nephelometerben ugyanazon koncentrációju ergotamin  
bázis Chinoin oldatából 6.4, sensibamin bázisból 6.4, ergotoxin bá-  
zisból 6.6, ergotamininból 8.8-as skála beosztás felelt meg, azaz  
-- az utóbbiakat is tartarát értékre átszámítva a Chinoin ergotamin  
21 %-al a sensibamin 21 %-al, az ergotoxin 17 %-al zavarosodik in-  
tenzívebben, viszont az ergotaminin 5 %-al gyengébben mint a Gynergen.

Hasonló összehasonlítást végeztem a fenti töménységű oldatok-  
kal fényelektromos fotometerben is. Ez a készülék azon alapszik, hogy  
két, ugyanazon izzólámpával megvilágított, egymással kompenzációs  
kapcsolással szembe kapcsolt fényelem /selenium/ eredő fotoáramát a  
készülékhez kapcsolt galvanometerrel mérjük. A két oldalán elhelye-  
zett fényelem egyenlő megvilágítása esetén a galvanometer nem mutat  
kitérést; különböző megvilágítás esetén /amit a sugarak útjába kü-  
lönböző absorpció képességű anyagok közbeiktatásával érhetünk el/  
a kitérés arányos lesz a két elem megvilágítás erősségének különb-  
ségével, azaz a közbeiktatott oldat absorpció képességével. Ha egyen-



lő megvilágítás mellett az egyik fényelem előtt a fény útját a készülékhez mellékelte diafragmával elzárjuk /azaz 100 %-s absorpciót létesítünk/ és a galvanometer kitérését a szabályozóval pontosan 100-ra állítva, a fény útját megnyitjuk, a galvanometer kitérése azonnal %-ban adja meg a vizsgálandó oldat absorpcióját, miután azt valamelyik küvettával a fényforrás és a fényelem közé helyeztük.-

Mérés előtt ellenőriznünk kell, hogy egyenlő megvilágítás esetén, amit a lámpa középbeállításával érünk el, a galvanometer mutatója pontosan 0-ra álljon be, egyik elemnek a diafragmával való eltakarására pedig kilengése 100 legyen. Ez az esetenkénti ellenőrzés arra szolgál, hogy a mérés eredménye függetlenül legyen a készülék selenium elem érzékenységének esetleges változásától és az áram erősségének variációjától.- Ezekre a tulajdonságokkal bíró Lange-féle fotokolorimeter, -- mely színmérésre és zavarosodás mérésre egyaránt alkalmas -- kiküszöböli azokat a hibákat, melyek a szabadszemmel történő leolvasást igénylő kolorimetreknél az egyéni fény és színérzékenységen alapuló szubjektív mérés esetében eltéréseket eredményezhetnek.-

Az alkaloida oldatok összehasonlítását úgy végeztem, hogy a mérés előtt beállított készülék küvettájába előbb a Gynergen oldatot helyeztem, majd a kilengési fok leolvasása után a vizsgálandó oldatokat néztem meg. Az összehasonlítás alapjául szolgáló standard oldat 50 cc.-éhez -- mint az értékmeghatározásoknál is -- 20 csepp Mayer reagenst tettem. Míg a 2 mgr. %-os Gynergen oldat  $39.5^{\circ}$  kitérést mutatott, addig a sensibamin bázis hasonló töménységű oldata Mayer reagens okozta zavarosodása 52.5, ergotamin bázis Ch. 52, ergotoxin bázis 47.5, az ergotaminin bázis  $35^{\circ}$ -os kilengést idézett



elő.- A tartarát szorzóértékének alkalmazásával kitűnik, hogy a sensibamin 25.2 %-al, az ergotamin Ch.25 %-al, az ergotoxin 21 %-al zavarosodott intenzívebben, míg az ergotaminin 10 %-al gyengébben mint az összehasonlításra szolgáló Gynergen Sandoz.-

Az anyarozs quantitativ értékmeghatározása során foglalkoztam egy új módszerrel az I.SMITH<sup>8</sup>-féle kolorimetriás metodussal is. Ennek lényege az, hogy a bór~~k~~ősavas oldatba juttatott anyarozs alkaloidák p.Dimethylamidobenzaldehyd kénsavas oldatával kék színeződést adnak, s e színeződés intenzitása egyenes arányban áll az oldat alkaloida tartalmával.- A szerző ezt a reactiót az anyarozs kolorimetriás értékmeghatározására használta fel és amint dolgozatában közli, az aetherrel kivont alkaloidákat 1 %-os bór~~k~~ősavas oldattal rázza ki, ebből 1-2 cc.-t kémcsövekbe tesz és hozzá 1 cc. reagenst ad. Első közlésében a reagens 1/60 molar. %-os p.Dimethylamidobenzaldehyd töménykénsavas oldata. Összehasonlításra olyan standard oldatokat használ, melynek 2 cc.-e 0.06, 0.08, 0.10 mgr. ergotamin tartarátot tartalmaz és amelyhez 1 cc. reagenst tesz. Més~~z~~erét alkalmazta az anyarozs kivonatainak értékmeghatározására is, melyeknek rázadékát azonban az aetherrel átvihető sárga szinanyagoktól, nagyon hígított ammoniával tisztítja, rázótölcsérben.- D.GERLOUGH<sup>10</sup> tapasztalati szerint a kivonatok ezzel a meghatározási móddal -- középértékben -- 16 % eltérést mutattak a kakastaréj meghatározási metó~~d~~us eredményeihez viszonyítva.- STEVENS<sup>11</sup> is végzett összehasonlító vizsgálatokat és egybevetve a Broom-Clark metódussal kapott meghatározási eredményeit a Smith kolorimetriával, közöttük 10-től - 26.2 %-ig eltérő eredményeket kapott. Ennek okát a kivonatokra vonatkoztatva -- az aetheres kivonásban és a reagens adagolása-



kör fellépő hőfejlődésben látja. Az ammoniával meglugosított kivonatot "Walkins" kivonókészülékkel vonja ki, szinteleníti és 1 %-os bórkősavas oldattal rázza ki. A reagens hozzáadása alatt -- nagyobb hőfejlődés elkerülése végett -- a kémcsövek hűtését ajánlja.-

Smith vizsgálat tárgyává tette a fény és az oldat savi töménységének befolyását is és eredményeit grafikonokkal közölte. Megfigyelte továbbá a phosphorsavas ergotoxin, valamint az ergotoxin bázis és az aethánsulfosavas ergotoxin szineződését is, majd arra vonatkozólag közöl ismertetést, hogy a kristályos ergotinin és az ergotaminin a hatékony ergotamin érték 90 %-ának megfelelő eredményeket adtak kolorimetriás eljárásával, bár biológiai vizsgálata során ezek az alkaloidák csak 10 % hatásértékét adták az ergotaminnak.

Tekintve, hogy a Smith módszer az első tapasztalatok után még javításra szorul PINXTEREN<sup>12</sup> is behatóan tanulmányozta, aki a pontosabb meghatározások céljából a vizsgálandó oldatnak a kolorimeterezés előtt 10-15 perces napfényen való tartását írja elő.- ALLPORT és KOCKING<sup>13</sup> dolgozata megemlíti azt, hogy a 0.125 % para Dimethylamidobenzaldehidet tartalmazó reagenst tömény  $H_2SO_4$  és destillált víz egyenlő térfogat mennyiségéből kell készíteni és a maximális szineződés gyors elérése céljából 0.005 %  $FeCl_3$  adandó hozzá.-

Ugyancsak ALLPORT és KOCKING<sup>14</sup> közlik egyik későbbi munkájukban, hogy a Smith elveit felhasználva a p.Dimethylamidobenzaldehidet más aldehidekkel /pl.vanillin/ próbálták helyettesíteni, ami azonban nem okozott változást.Megfigyelésük szerint az általuk ajánlott  $FeCl_3$ -t tartalmazó reagenssel az alkaloida oldatok szineződése néhányperc alatt bekövetkezik és -- sötét helyentartva -- a szineződést egy hónapon keresztül változatlanul megőrzik.-

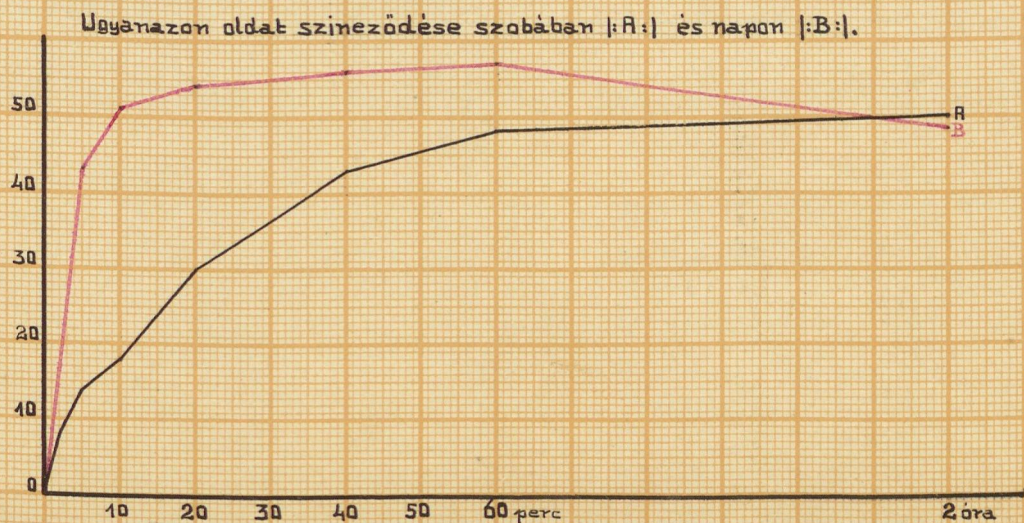
Smith utal arra is,hogy a histamin, tyramin, ergosterin, ace-



thylcholin nem zavarják a reactiót; ennek azonban gyakorlati jelentősége nincs, mivel a megadott előírás szerint az anyarozsból csak a vízben oldhatatlan hatóanyagok kerülnek aetheres majd bórkösavas oldatba, a fentiek pedig a vizes résszel külön választatnak. Szükség volt tehát e módszer gyakorlati értékének és helyességének megállapítása. A qualitativ <sup>próbák</sup> során feltűnt már, hogy a kék színeződés erőssége nemcsak az alkaloida oldat töménységétől, <sup>függetlenül</sup> hanem annak árnyalata más és más aszerint, hogymennyi reagenset adtam hozzá, és milye<sup>n</sup> töménységű  $H_2SO_4$ -ben oldott p. Dimethylamidobenzaldehyd közegében végeztem a reactiót.-

Az anyarozs alkaloidát tartalmazó és Smithreagenstől kék színt öltött oldatainak színerősségét -- az objektív leolvasás céljából -- a már ismertetett Lange-féle foto-kolorimeterben vizsgáltam meg. A reagenset -- Allport módosításának megfelelően -- tömény  $H_2SO_4$  és víz egyenlő térfogat mennyiségében oldott p. Dimethylamidobenzaldehydből készítettem és katalizátornak vaschloridot adtam hozzá.-

Kísérleteim kapcsán a következőket figyeltem meg: Ugyanazon ergotamin oldat más és más színerősséget vett fel, aszerint, hogy szobai szétszórt fényen vagy napon tartottam a folyadékot. Több reagens hozzáadására ugyanazon mennyiséget tartalmazó oldatom erősebben színeződött, viszont minél hosszabb volt az állásidő, annál sötétebb árnyalatot kapott az oldat.





Ezek alapján tehát a következő kérdések merültek föl:

1. Ugyanazon töménységű oldat bizonyos mennyisége ugyanannyi kémszer hozzáadása után, azonos körülmények között, bizonyos meghatározott időben egyformán színeződik-e és milyen grafikonnal fejezhető ki ez a szabályszerűség?

2. Egyazon alkaloida különböző töménységű oldata, ugyanannyi kémszer hozzáadása után ugyanannyi idő alatt milyen színeződést mutat?

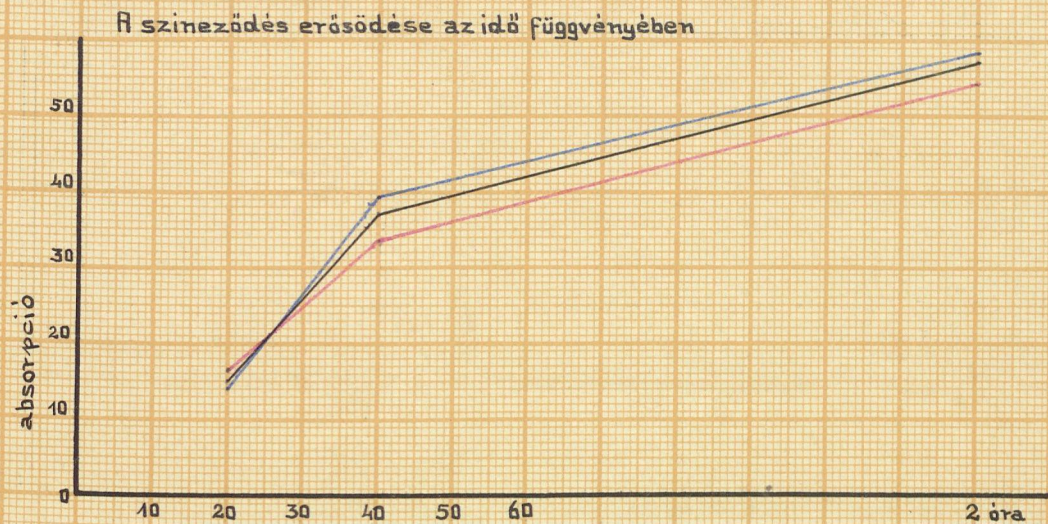
3. Az anyarozs egyes hatékony alkaloidái /ergotamin, sensibamin, ergotoxin, ergotaminin/ azonos körülmények között /idő és koncentráció/ egyformán színeződnek-e vagy intenzitásbeli különbség van közöttük. Ez igen fontos a módszer gyakorlati értékét illetőleg, ugyanis, ha egyik alkaloida érzékenyebb a Smith Reagenssel szemben mint a másik, akkor a meghatározások nem adnának realis eredményt.-

Önkényesen úgy választottam meg, hogy a vizsgálataimhoz mindig 2 cc. alkaloida oldatot vettem és hozzá -- a színeződés gyorsabb bekövetkezése céljából -- 2 cc. Smith reagenst adtam. A vizsgálat ideje a reagens hozzáadásától számított 30-35 perc. Erre az időre vonatkozik a galvanometer kitérési fokának megfelelő koncentrációt mutató tapasztalati görbe is.-

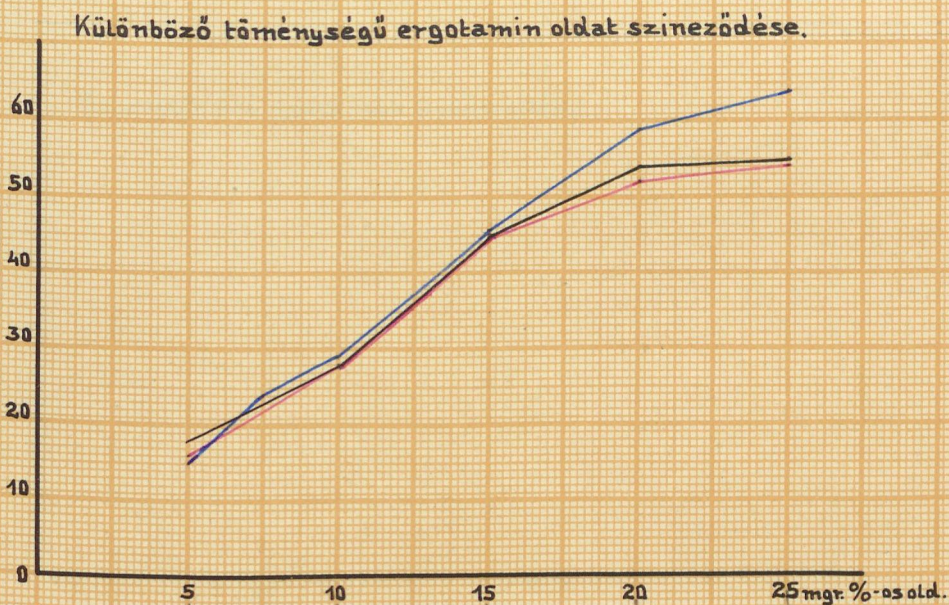
Az első probléma megvilágítására készítettem 0.15 mgr.%-os ergotamin oldatot, melynek szétszórt szobai fény melletti színeződését a csatolt -- 3 parallel próbát feltüntető -- grafikon mutatja.-

Tehát az tapasztalható, hogy az eddigi ismertetésekkel ellentétbe -- 1/4 óra múlva sem, de még 2 óra múlva sem éri el a színeződés intenzitásának maximumát.-





A különböző koncentrációjú oldatok színeződését ergotamin Ch. alkaloida oldatain figyeltem meg. Készítettem 5-7.5-10-15-20-25 mgr. %-os oldatokat és három egymásutáni próbát végezve azt tapasztaltam, hogy a színeződés a kisebb töménységű oldatoknál egyforma, míg a 15 mgr. %-osnál töményebbek már némi eltérést mutatnak.-

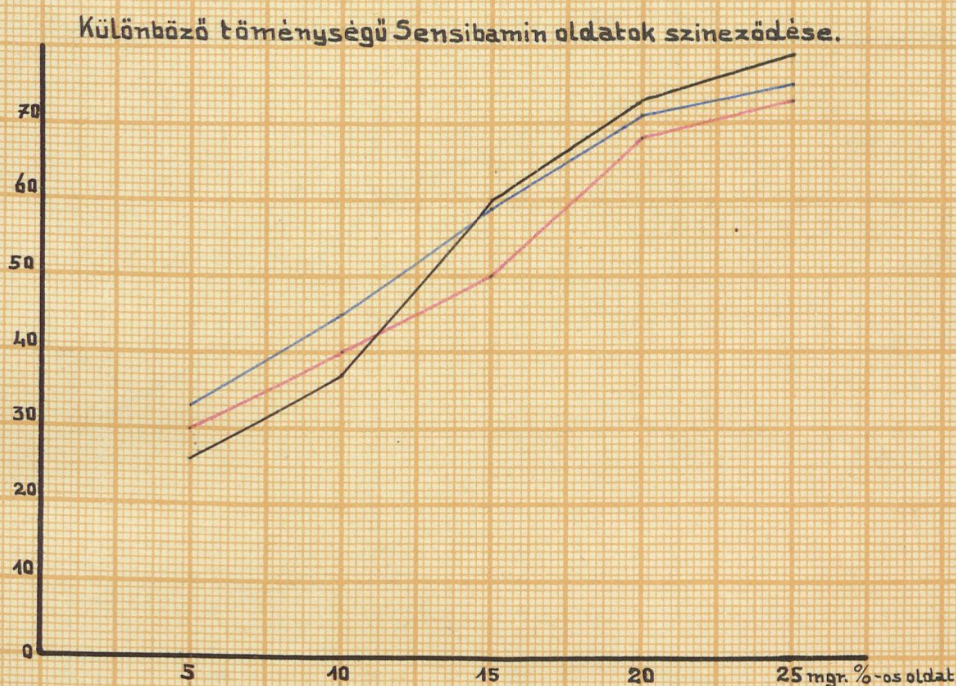


A csatolt eredmények középértékének görbéje arra is szolgál, hogy ismeretlen oldatok alkaloida koncentrációját a galvanometer ki-lengését ismerve -- leolvassuk. Ez az empirikus módszer mentesít at-tól, hogy a vizsgálandó oldatok összehasonlítására esetenként ismert ergotamin vagy sensibamin oldatot készítsünk. Ily módon az anyarozs



hatásértékét ergotaminba fejezzük ki. Nyilvánvaló, hogy minél töményebb az oldat, anél intenzívebb a szineződés, nagyobb a galvanométer mutatójának kilengése.-

Az anyarozs különböző, specifikusan ható alkaloidáinak szineződését is vizsgálat tárgyává tettem. Az ergotamin után a sensibamint vizsgáltam meg. Ugyanolyan töménységű oldatokat készítettem a beszerzett sensibamin Chincinből, mint előzőleg az ergotaminból is.



ménységű oldatának eredményeivel, azt tapasztaljuk, hogy a sensibamin a Smith reagenssel intenzívebben szineződik. Ez a körülmény egy sensibaminban gazdag drógnál -- a kolorimetriás értékmeghatározással -- túl magas hatóanyag tartalmat mutat. Ha pedig az értékmeghatározások során a standard oldat sensibaminból készülne, a dróg %-os tartalma kisebbnek tünne.-

Az ergotamin és a sensibamin után az ergotoxin szineződését néztem meg. Hasonlóan különböző oldatok 30 perc alatt bekövetkezett színintenzitását olvastam le és könnyebb áttekintéskedvéért ezeket az értékeket is, valamint a középértéket is grafikonnal ábrázolom.



hatásértékét ergotaminba fejezzük ki. Nyilvánvaló, hogy minél töményebb az oldat, anél intenzívebb a szineződés, nagyobb a galvanométer mutatójának kilengése.-

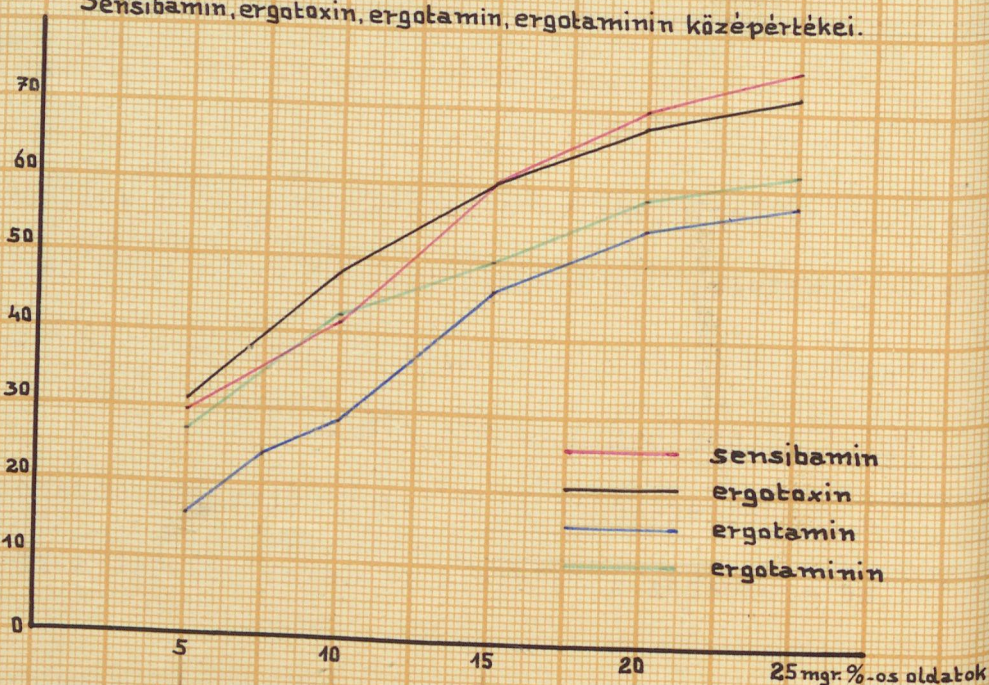
Az anyarozs különböző, specifikusan ható alkaloidáinak szineződését is vizsgálat tárgyává tettem. Az ergotamin után a sensibamin vizsgáltam meg. Ugyanolyan töménységű oldatokat készítettem a beszerzett sensibamin Chincinból, mint előzőleg az ergotaminból is.

Ezeket a leolvasásokat összehasonlítva az ergotamin ugyanolyan töménységű oldatának eredményeivel, azt tapasztaljuk, hogy a sensibamin a Smith reagenssel intenzívebben szineződik. Ez a körülmény egy sensibaminban gazdag drógnál -- a kolorimetriás értékmeghatározással -- túl magas hatóanyag tartalmat mutat. Ha pedig az értékmeghatározások során a standard oldat sensibaminból készülne, a dróg %-os tartalma kisebbnek tűnne.-

Az ergotamin és a sensibamin után az ergotoxin szineződését néztem meg. Hasonlóan különböző oldatok 30 perc alatt bekövetkezett színintenzitását olvastam le és könnyebb áttekintéskedvéért ezeket az értékeket is, valamint a középértéket is grafikonnal ábrázolom.

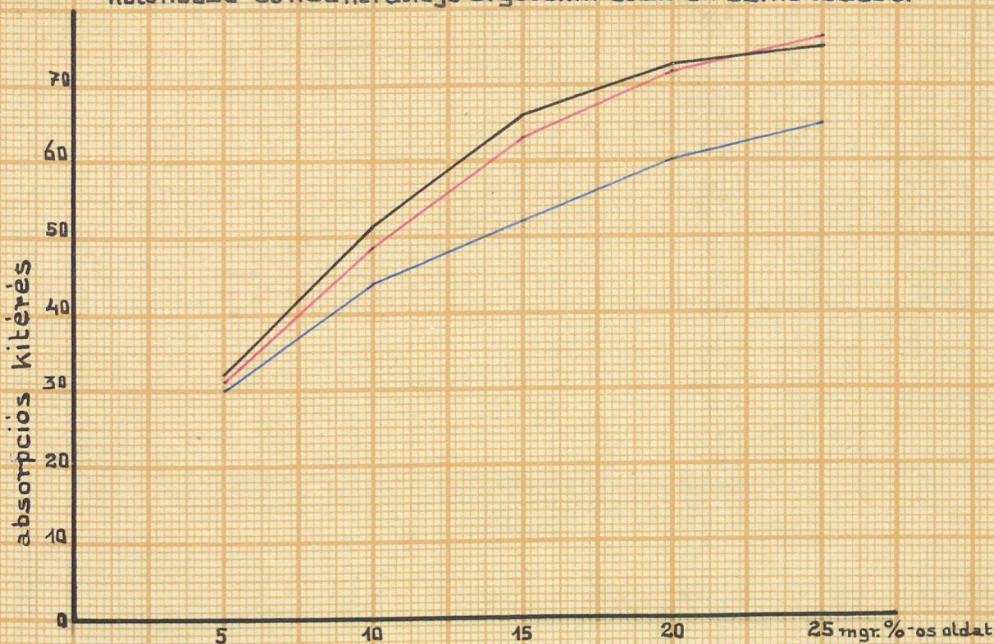


Sensibamin, ergotoxin, ergotamin, ergotaminin középértékei.



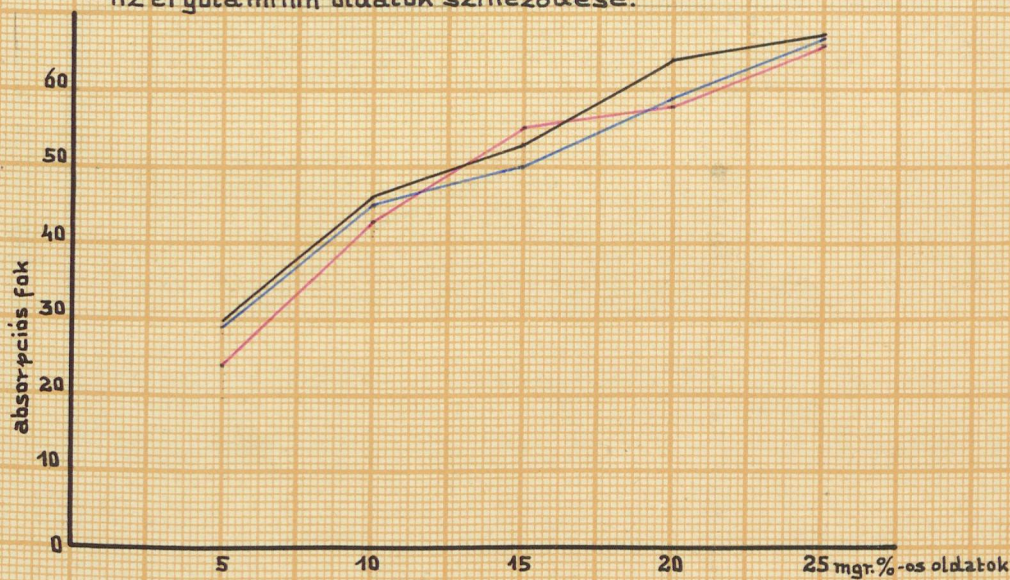


Különböző koncentrációjú ergotoxin oldatok színeződése.



Nem közömbös az sem, hogy a secale cornutum azon alkaloidái, melyek hatásukban mögötte állanak az eddig tárgyaltaknak, milyen mértékben színeződnek a Smith reagenssel. Ezek közül az ergotaminból keletkező ergotaminint figyeltem meg.

Az ergotaminin oldatok színeződése.



Az alkaloidák középérték grfikojait egymás mellé helyezve kitűnik, hogy legintenzívebb kezdeti színeződe volt az ergotoxinnak és a sensibaminnak, legvilágosabbnak az ergotamint találtam, melyet még az ergotaminin is felülmulott. A 25 mgr. %-os oldatoknál a legnagyobb kilengést a sensibamin okozta /75/.

A rendelkezésünkre álló ismert savszámu anyarozs mintáknak a kolorimeterezéshez alkalmas bórkősavas oldatát a következőképen ál-



litottam elő: 2.5 gr. zsirtalanított anyarozsport 1.25 gr.H<sub>2</sub>O és 0.125 gr. MgO-val összekevertem és 50 cc.aetherrel kiráztam. Egy-két órai állás után 2 cc. vizet és 0.25 gr. tragakantha port adtam hozzá összeráztam és az aetheres oldatból 40 cc-t leválasztottam. Ezt kevés ammoniákat tartalmazó vízzel rázótlcsérben átmosással szintelenitettem. A szintelenített aetheres résztl %-os bórkösavas oldattal többször ismétele<sup>ve</sup> kiráztam és a rázadékot 25 cc.-re egészítettem ki, amikor is 1 cc. solutio = 0.08 gr. dróggal. Ebből az oldatból vettem 2 cc.-t, melyhez 2 cc. Smith reagenst tettem és 30 perc múlva kolorimetereztem. A galvanometer kitérésének megfelelő alkaloida mennyiséget amely tartatra vonatkozik megszoroztam 0.84-el, hogy alkaloida bázis értékét kapjam.A talált értékeknek megfelelően táblázatban tünteten fel az anyarozs minták alkaloida tartalmát, kifejezve azt ergotaminban, sensibaminban, ergotoxinban és ergotamininban, jelezve az előbbi módszerekkel kapott eredményektől való %-os ingadozásokat is.

Meghatározási eredmények táblázata:

Sor-szám	Sav-szám	Gravimetria	Nephelomet.	Kolorimeterrel					Differencia grav.neph	
				Ergotamin	Sensibamin	Ergotoxin	Ergotaminin	Középérték		
1	3	0.140 0.147	0.11	0.220 0.219	0.147 0.128	0.143 0.128	0.220 0.185	0.174	% 15	% 24
2	2	0.071 0.079	0.078	0.120	0.084	0.068	0.082	0.089	23	15
3	3.2	0.085	0.082	0.121	0.098	0.067	0.098	0.096	10	15
4	2.2	0.097	0.087	0.201 0.210	0.119 0.129	0.119 0.137	0.173 0.201	0.154	59	76
5	3.4	0.076	0.087	0.122	0.085	0.069	0.083	0.090	18	2.8
6	-	0.11	0.105 0.050	0.176 0.182	0.126 0.128	0.107 0.112	0.147 0.154	0.139	Zsirtalan dróg ért.	
7	2.8	0.068	0.046	0.091	0.059	0.051	0.058	0.065	3.8	11.5
8	2.6	0.062	0.049	0.101	0.064	0.056	0.064	0.071	14.5	22.5
9	1.8	0.053	0.034	0.089 0.095	0.050 0.058	0.043 0.052	0.054 0.057	0.062	15	12
10	2.4	0.084	0.093	0.112 0.114	0.082 0.084	0.061 0.068	0.078 0.082	0.085	2.1	8.2
11	1.4	0.052	0.054	0.091	0.055	0.050	0.052	0.062	14.6	13.5



Amint látható egyes esetekben igen nagy eltérések vannak a precízebben elvégezhető gravimetria, valamint nephelometria eredményei és a nagyon labilis Smith eljárás adatai között. Ennek okát elsősorban abban látom, hogy az alkaloidák különbözőképpen színeződnek a Smith reagenssel és a színerősségre rendkívül nagy hatással van a fény intenzitása, olyannyira, hogy más eredményt ad ha borult időben végezzük az értékmeghatározást és más értékeket kapunk, ha derült idő visszavert napfénye teszi jól világítottá laboratóriumunkat.

\*\*\*

Felmerült az a kérdés, hogy vajon a gravimetriás eljárással kapott és hatékony alkaloida gyanánt mért anyagok kifogástalan fiziológiai hatással bírnak-e, vagy kivonat anyagok szennyeznek? E célból az Intézetben kidolgozott biológiai eljárással vizsgáltuk meg az esetenként nyert secale alkaloidák hatásértékét. A dolgozat ISSEKUTZ-LEINZINGER<sup>15</sup> közlésében "Az anyarozs értékmeghatározása" cím alatt a Magy. Gyógysz. Tud. Társ. Ért. 1927. évi 2. számában jelent meg. Ennek a biológiai eljárásnak alapja az *ergotamin-adrenalin* *antagonizmus*. Ugyanis az adrenalin a vékonybél peristaltikáját csökkenti, a belet elernyezi; az anyarozs alkaloidái pedig az adrenalinnek ezen hatását gátolják. A kísérletet izolált túlélő nyulbélben végzik, melynek 2-3 cm. hosszú darabjaihoz -- megfelelő készülékben -- bizonyos mennyiségű adrenalin adnak. A megfigyelt amplitudó ennek következtében kisebbedik. Ezután -- ki-mosva a kacsokat -- ismert ergotamint illetőleg vizsgálandó secale alkaloidát adnak hozzá és miután ez kifejtette hatását, az adrenalinnek előbbi mennyiségét adagolják a kacsokat tartalmazó 37 C°-os Tyrode oldathoz. Ekkor azonban az amplitudó kisebbedése nem fog olyan mér

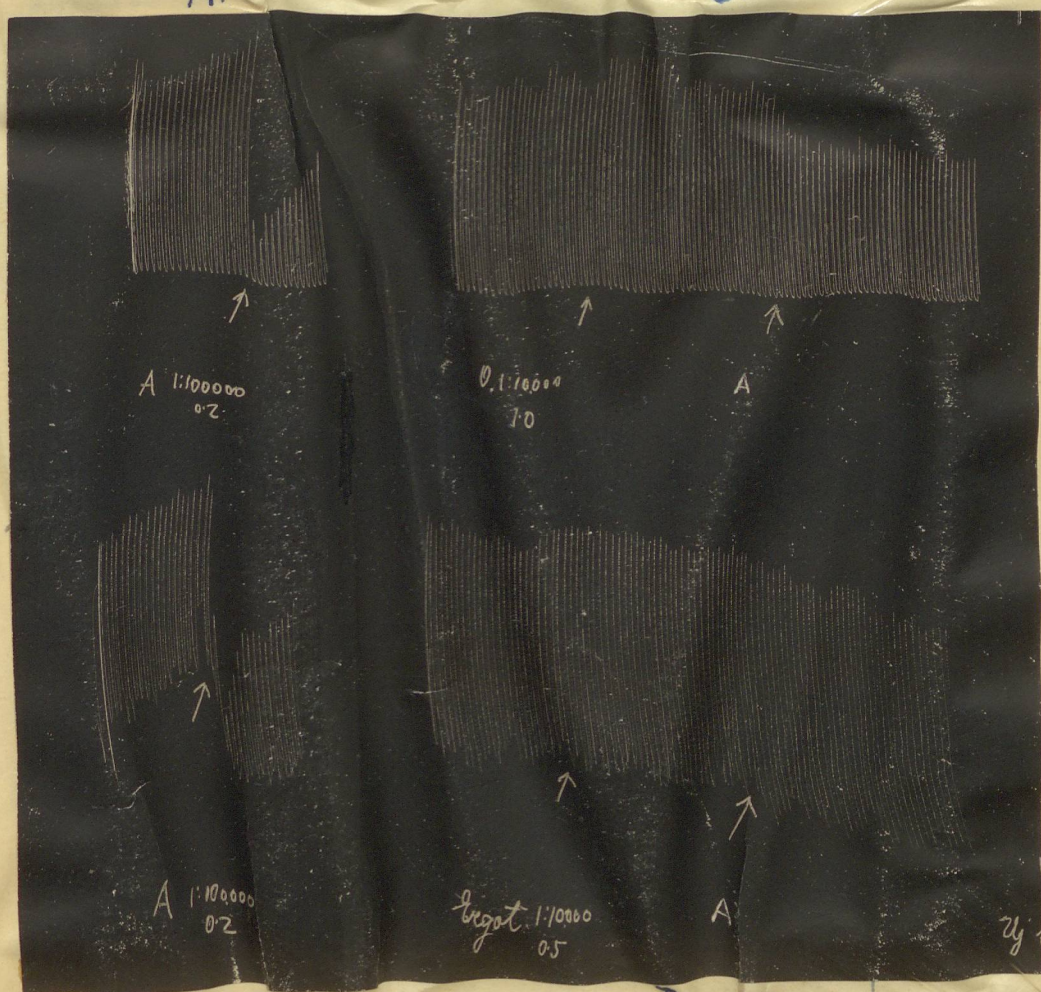


tékben bekövetkezni, mint a tájékoztató kísérletnél. A két adrenalin hatás különbsége a kiszámítás kiinduló pontja. Ha az első adagolásnál az amplitudó csökkenés  $a$  m/m, a másodiknál  $b$  m/m, akkor a %-os kiszámítás képlete  $\frac{100 \times /a - b/}{a}$ . Az így nyert %-os gátlás megmutatja, hogy bizonyos mennyiségű adrenalin mellett mennyi ergotamin illetve az ismeretlen secale alkaloida hány cc.-e okoz 100 %-os gátlást. Ebből könnyen kiszámítható ismeretlen oldatunk hatásértéke.

A dróg száma	Alkaloidáinak 100 %-os gátlást okozó mennyis.	Ergotamin 100 %-os gátlást okozó meny.	Az adagolt adrenalin menny.mgr.-ban
1	0.128 mgr.	0.105 mgr.	0.0042
2	0.13 "	0.094 "	0.0044
3	0.068 "	0.073 "	0.0045
5	0.067 "	0.073 "	0.0034
6	0.150 "	0.106 "	0.0045
7	0.112 "	0.109 "	0.0065
8	0.15 "	0.124 "	0.0065

A gátlás szemléltetésére közlök egy példát is, melynél jól

H. Gynergen adaloida gátló





tékben bekövetkezni, mint a tájékoztató kísérletnél. A két adrenalin hatás különbsége a kiszámítás kiinduló pontja. Ha az első adagolásnál az amplitudó csökkenés  $a$  m/m, a másodiknál  $b$  m/m, akkor a %-os kiszámítás képlete  $\frac{100 \times /a - b/}{a}$ . Az így nyert %-os gátlás megmutatja, hogy bizonyos mennyiségű adrenalin mellett mennyi ergotamin illetve az ismeretlen secale alkaloida hány cc.-e okoz 100 %-os gátlást. Ebből könnyen kiszámítható ismeretlen oldatunk hatásértéke.

A dróg száma	Alkaloidáinak 100 %-os gátlást okozó mennyis.	Ergotamin 100 %-os gátlást okozó menny.	Az adagolt adrenalin menny.mgr.-ban
1	0.128 mgr.	0.105 mgr.	0.0042
2	0.13 "	0.094 "	0.0044
3	0.068 "	0.073 "	0.0045
5	0.067 "	0.073 "	0.0034
6	0.150 "	0.106 "	0.0045
7	0.112 "	0.109 "	0.0065
8	0.15 "	0.124 "	0.0065

A gátlás szemléltetésére közlök egy példát is, melynél jól látható az adrenalin okozta amplitudó kisebbedés /A/, a Gynergen adagolása utáni változás /B/, valamint a vizsgálandó alkaloida gátló értéke is/C/-





Tekintve, hogy egyenlő mennyiségek egyenlő hatásereőségre val-  
lanak, megállapítható, hogy a Wessel eljárással izolált alkaloidaim  
elhanyagolható szennyezéseket tartalmaztak és hatékonyak voltak.-

\* \* \*

A továbbiakban néhány meghatározással akarom szemléltetni a  
gyógyászati szempontjából olyan fontos anyarozs-megőrzés célszerűsége-  
t és az eltartás ideje alatt bekövetkezett savszám növekedését, va-  
lamint az alkaloida tartalom közötti viszony összefüggését. Nem ele-  
gendő betartani a gyógyszerkönyvek azon rendelkezését, hogy az anya-  
rozs évenként megújítandó és beszerzéskor annak értéke a savszám-  
titrálással meghatározandó, hanem az eltartásra vonatkozó szabályait is  
pontosan be kell tartani.

A savszám növekedését és az alkaloida tartalom csökkenését  
néhány rendelkezésemre álló anyarozs mintán határoztam meg. Ezeket  
különbféle módon tartottam el, hogy a megőrzés módjai között is fel-  
tudjam tüntetni a különbségeket. Egyazon drógot, melynek ismertem  
savszámát és alkaloida tartalmát is, elraktároztam 1./ poritva és  
petrolaetherrel zsirtalanítva, 2./ egészben állványüvegben, 3./  
poritva zsirosan sötét helyen légmentesen elzárva, 4./ poritva zsi-  
rosan, szabad levegőn /amint azt helytelenül a rendelkezések elle-  
nére gyógyszerházakban hosszabb-rövidebb ideig tartják is/.-

A zsiros dróg nagyobb alkaloida veszteségének magyarázatát  
az adja, hogy a zsiros olaj, mely petrolaetherrel kivonható és  
amely egy barnás színű nagyon kicsit fluoreszkáló avas illatu olaj,  
aránylag nagy mennyiségű telítetlen vegyületet tartalmaz. Összetéte-  
le FIERO<sup>16</sup> szerint: 3 % myristinsavas, 25 % palmitinsavas, 2.1 % ste-  
arinsavas, 20.9 % olajsavas, 35.8 % ricinolsavas, 13 % linolsavas és



kis mennyiségű linoleinsavas ester. Ezek közül az olajsav egy, linolsav kettő, a linoleinsav négy kettőskötést tartalmaz vegyi szerkezetében, miáltal a levegő oxigénjét vagy ozonizált oxigénjét könnyen megköti. Az oxigénnel szemben a secale alkaloidák rendkívül érzékenyek, elbomlanak. Ha a dróg poritva van, a levegővel való érintkezési felület nagyobb és a fennti hatás annál nagyobb mértékben következhetik be. A megfigyeléseknek kitett mintákat 3 hónapi megőrzés után vizsgáltam meg és a következő eredményeket kaptam:

dróg szá- és eltár- si módja.	Sav- szám	Gravi- metria	Nephe- lomet.	K o l o r i m e t e r r e l					Eredeti	
				Ergo- tamin	Sensi- bamin	Ergo- toxin	Ergota- minin	Közép- érték	sav- sz.	alkal- grav.
Nº 2. irtalan	-	0.068	0.069	0.110	0.062	0.058	0.059	0.072	2	0.075
észben rtott	2.2	0.066	0.070	0.089	0.050	0.043	0.054	0.059		
zárt zsi- s por	4	0.059	0.053							
iros por abandon	6.3	0.053	0.052	0.063	0.024	0.039	0.070	0.057		
Nº 11. irtalan	-	0.051	0.051	0.089	0.050	0.043	0.054	0.059	1.4	0.052
észben rtott	1.8	0.051	0.051	0.105	0.063	0.057	0.063	0.072		
zárt zsi- s por	2.2	0.050	0.054	0.095	0.058	0.052	0.057	0.065		
iros por abandon	2.8	0.048	0.049	0.086	0.052	0.047	0.051	0.059		

A közölt táblázatban foglalt meghatározási eredményeim is arra engednek következtetni, hogy legkevésbé változik az anyarozs hatásértéke, ha azt zsirtalan állapotban őrizzük, bár a megőrlés és kivonás ideje alatt itt is számolnunk kell alkaloida veszteséggel. A 3. és 4. pont szerinti helytelen megőrzési mód -- a már említett okok folytán -- szembetűnő csökkenést eredményez.

A középértékeket véve a zsirtalanul megőrzött drógnál súlyméréssel 5.3 %, nephelometerrel pedig 9.3 % csökkenést találtam. Az egészben tartott dróg már 7.7 % illetőleg 7.2 % csökkenést mutatott,



míg a megőrölt, napfényen és levegőn tartott, gyakran felkevert mintám 18.7 %-al, nephelometerben értékelve pedig 9.9 %-al adott kisebb eredményt. A porított anyarozs sötét helyen jól elzárva is lényegesen változott, amennyiben alkaloida tartalma 12.3, illetőleg 16 %-al csökkent.-

A kísérleti célból megőrzött minták savszám változásainak középértékét véve láthatjuk, hogy egészben tartva már rövid idő alatt is 20 %-ot emelkedett, porított és légmentesen elzárt drógnál 80 %-al volt magasabb az eredeti savszámnál, a szabad levegőn tartott zsiros anyarozs por egyik mintámnál kétszeresére a másiknál több mint háromszorosára emelkedett. Tehát az alkaloidák csökkenése nem tart lépést a savszám rohamos emelkedésével.-

\* \* \* \*

Az anyarozs leghasználatosabb gyógyszerári formájának, a k i v o n a t n a k terapeutikus hatása tudvalevőleg a specifikus és nemspecifikus /amin származékok/ hatásából tevődik össze. A különböző gyógyszerkönyvek a dróg hatóanyagainak lehetőleg változatlan kivonása céljából különböző módszereket és különböző kivonó anyagokat írnak elő:

Pharmakopea	A f o l y é k ö n y k i v o n a t		Megjegyzések
	kivonószere	módszere	
H.IV.	Aq.cinnamomi, glycerin 20 %-os alkohollal	perkolálással	
Austr.VIII.	Aq. dest. alkohol és glycerin	"	
Germ. VI.	Aq. dest. alkohol és sósav	"	
Ital.III.	Aq. dest. alkohol és glycerin	macerálással	Zsirtalan drógból készített
Gall.	Aq.laurocerasi, Aq. dest.alkohol és acid.tartaric.	perkolálással	Salicylsavval konzerváltatja
U.S.A.	Alkohol, acid.acet. dílut	"	



Amint a táblázatból látható közömbös vagy megsavanyított oldattal /bórkősav, sósav, ecetsav/ végzendő a kivonás legtöbbször zsiros drógból, perkolálással.-

Vizsgálatokat végeztem azon célból, hogy az anyarozs érzékeny alkaloidáit a IV. kiadásu magyar gyógyszerkönyvi módszerrel, zsiros drógból előállított folyékonykivonat milyen mennyiségben tartalmazza közvetlen a kivonás után. E-végből ismert alkaloida tartalmu mintákból -- a rendelkezések pontos betartásával -- kivonatokat készíttettem a következő módon: a zsiros, porított, negyedik szitán átszitált drógot glycerin és aq.cinnamomi spir. elegyével átnedvesítettem és 2 órai állás után felerészt mosott kvarchomokkal dörzsöltem össze, majd perkolátorba helyeztem. A szeszes-vizes kivonószert a perkoláció szabályai értelmében 48 óra múlva engedtem le, a dróg 85 súly %-ának megfelelő perkolátumot külön tettem, a későbbi részletet pedig 80-90 C<sup>o</sup>-os vízfürdön 15 súly %-ra pároltam be és egyesíttettem. Ülepítés után az egyesített kivonatokat papirfilteren szűrtem.-

Az így előállított folyékony anyarozs kivonat alkaloida tartalmát nephelometerrel határoztam meg a következő képen: 1 gr.folyékony kivonatot /- 1 gr. dróggal/ 5 cc. destillált vízzel higitottam 1/2 cc. MgO suspensióval meglugosítottam és rázóüvegben háromszor 10-10 cc.aetherrel kiráztam. Az egyesített aetheres rázadékokat 0.5 %-os bórkősavas oldat 3 x 10-10 cc.-ével ráztam ki, enyhe hőnél az aethert elűztem a rázadékból és Mayer reagens hozzáadása után 50 cc.-re egészítettem ki. Ezzel az eljárással a kivonatok alkaloida tartalma quantitative oldatba jut, melyeknek összehasonlítását és kiszámítását a dróg értékmeghatározásánál ismertetett módon végeztem. Megvizsgáltam az 1,2,5,7,8,11 számú minták folyékony kivonatát és a következő eredményeket találtam:



A dróg száma	A dróg alkaloida tartalma	A folyékony kivonat tartalma	Megjegyzések
1.	0.11 %	0.0142 %	
2	0.078 %	--	Alig észrevehető zavaros.
5	0.087 %	0.0123 %	
7	0.0503 %	0.0084 %	
8	0.049 %	--	Nem volt zavarosodás
11	0.054 %	--	Alig észrevehető zavaros.

A táblázatban feltüntetett eredmények igazolják, hogy a készítés ideje alatt a dróg szabad zsírsavai a levegő és a bepárolgatás hőfoka mennyire elbontják az anyarozs alkaloidait. Így az 1. számú minta 0.11 %-os alkaloida tartalma csaknem 1/10-ére csökkent: 0.014%. A 2. számú dróg 0.078 % alkaloidatartalma pedig majdnem egészen megsemmisült úgy, hogy a Mayer reagens hozzáadására alig észrevehető zavarosodást kaptam, amely még nephelometerben sem volt értékelhető. Az 5. számú minta 0.0878 %-ot tartalmazó ugyancsak értékes dróg folyékony kivonata 0.0123 % alkaloida tartalmat mutatott. A 8. számú mintának folyékonykivonatában alkaloidák jelenlétét Mayer reagenssel sem tudtam kimutatni.-

Tökéletes kivonó módszer ezidőszereint még nem áll rendelkezésünkre, bár az irodalom felemlít olyan zártrendszerű készüléket, melyben a levegő kizárása mellett CO<sub>2</sub>-os közegben végzik a kivonást. Valószínű azonban, hogy a keletkezett szén-sav is károsan befolyásolja az alkaloida tartalmat.-

Amint már megjegyeztem, a megengedett savszámot meghaladó dróg is lehet még kívánt mértékben hatékony, de folyékonykivonata már lényegesen kevesebb alkaloidát tartalmaz, tehát biológiai hatása inkább a nem specifikus hatóanyagoknak tudható be. Ez a konklúzióm ellentmond LIPTÁK<sup>17</sup> tanulmányának azon következtetésével, hogy "minél nagyobb az anyarozs savszáma, annál kisebb a dróg hatása", ugyanis



-- amint a dolgozat közli -- a szerző az ismert savszámu anyarozs minták magyar gyógyszerkönyvi előírás szerint készült kivonatainak farmakologiai hatását vizsgálta és eltekintett attól, hogy a dróg hatékony alkaloidáit izolálja valamelyik megfelelő ismert eljárással és azokat értékelje. A készült extractumokkal Fritz G. állatkísérleteket végzett és azoknak hatástani értékét histaminban fejezte ki. Ezeknél az eredményeknél levonható következtetéseknél a szerző nem vette tekintetbe azt a körülményt, hogy a kivonás és bepárolás ideje alatt a dróg hatékony alkaloidái elbomolhattak, tehát eredményeiben nem kaphatta az anyarozs eredeti, valóságos hatásértékét. - Allitása vonatkozhatik a magas savszámu drógok folyékonykivonataira, de nem következhetik belőle az, hogy a kettőnél magasabb savszámu secale cornutum gyógyszeréllra nem használható.-

Néhányismert mintából a zsiros olaj eltávolítása után is készítettem folyékony kivonatot, hogy következtetést tudjak vonni a zsírsavak okozta alkaloida veszteségről. A kivonó eljárást, valamint a meghatározást is változatlanul a fent ismertetett módon végeztem. Összehasonlítva ezeket az eredményeket a zsiros anyarozsból készült kivonatok értékeivel azt tapasztalhatjuk, hogy az előzetes zsirtalanítás lényeges változást nem okoz, bár a kapott eredmények valamivel magasabbak. Így az 1. számu minta 0.0142 % helyett 0.0168 %-ot mutatott, a 2. számu minta nem mérhető zavarosodása most már 0.0105 % alkaloida tartalomra emelkedett. Az 5. számu dróg alkaloida tartalma változatlanul 0.012 % volt.-

Ezek a kísérletek alátámasztják azt a feltevést, hogy a secale cornutum olyan gyakran rendelt kivonatainak therapeutikus hatásában elsősorban a nem alkaloida természetű amin vegyületek -- histamin, tvramin, p.oxyphenylaethylamin, izoamilamin -- játszanak szerepet



és ezen a téren lényeges javulást az a rendelkezés sem hozna, ha a gyógyszerkönyvek zsirtalanított drógból készítenék az extractumokat.

Mindaddig amig kifogástalan kivonó eljárást nem ismerünk, be kell érjünk azzal, hogy az alkaloidáknál sokkal labilisabb extractumok álljanak az orvos rendelkezésére, vagy,--amint azt az angol és francia gyógyszerkönyvek már el is rendelték-- áttérünk a vegytiszta hatóanyagok tartására és adagolására, melyeknek előállítása az anyarozs hatóanyagainak felkutatását és izolálását célzó hosszú és eredményes kísérletek után ma már nehézségek nélkül elvégezhető.-



## I R O D A L O M .

1. Jakabházy-Issekutz: A gyógyszerismeret tankönyve.
2. Issekutz-Leinzinger: Az anyarozs alkaloidáinak biológiai titrálásáról. M. Gyógysz.Tud.Társ.É. 1935,2.
3. S.Smith und G.M.Timmis: Die Alkaloide von Mutterkorn. Teil II. Journ.Chem.Soc. 1931.1888-89.
4. W.Küssner: Über ein neues spezifisches Alkaloid im Mutterkorn. E.Merck's Jahresbericht 1933.
5. Tschirch: Pharmakognosie, III.Band,I.T. 1923.
6. Wessel F.: Über die Bestimmung der Alkaloide im Mutterkorn, Pharmazeutische Zeitung, 1928,22.
7. Gaal: Adatok a secale cornutum értékmeghatározásához, M.Gyógysz. Tud. Társ. É. 1928,32 old.
8. Tukats: Über die Wertbestimmung des Mutterkorns mit dem Nephelometer, Pharm.Monatsheften, 1933.
9. M.I.Smith: Eine quantitative kolorimetrische Reaktion der Mutterkornalkaloide und ihre Anwendung zur chemischen Standardisierung von Mutterkorn-präparaten, Publ.Health Report.1930,45.
10. D.Gerlouth: Vergleich des physiologischen Auswertung von Mutterkorn-fluidextract mit der kolorimetrischen Bestimmung nach Smith, Am. Ph. 1931, 11.
11. A.N.Stevens: Eine Modifikation des quantitativen kolorimetrischen Bestimmung nach Smith, Ebenda 1933,22, 99-106.
12. J.A.von Pinxteren: Vergleichende untersuchungen über einige chemische Wertbestimmungsmethode für Mutterkorn; Ph.Wkbl.931 46.
13. Allport und T.Kocking: Kolorimetrische Wertbestimmung von Mutterkorn, Chem.and Drugg. 1932, 117 sz.
14. Allport und T.Kocking: Kolorimetrische Bestimmung von Mutterkorn, Quarterly J.Ph. 1932, 5, 341-346.
15. Issekutz-Leinzinger: Az anyarozs értékmeghatározása, Magy.Gyógysz.Tud. Társ. Ért. 1927,3.
16. G.W.Fiero: Chemische Untersuchung des Mutterkornöles, J.Am.Ph.Ass. 1933, 22, 608-616.
17. Lipták: Adatok a secale cornutum értékmeghatározásához, Magy.Gyógysz. Tud.Társ. Ért. 1926 216 old.
18. Lipták: A secale cornutum vizsgálatainak mai állása, M.Gyt.T.É.1931,1.